Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 14, No. 1, Spring 2022, p. 97-107

Effect of different sources of organic and inorganic manganese on productive performance, antioxidant status, immune system and bone strength in aged laying hens (82 to 94 weeks)

Mohammadreza Khoshbin[1], Reza Vakili[2]*, Abdolmansour Tahmasbi[3]

Received: 12-10-2021
Revised: 22-12-2021
Accepted: 05-05-2022
Available Online: 07-06-2022

How to cite this article:
Khoshbin, M. R., R. Vakili, and A. Tahmasbi. 2022. Effect of different sources of organic and inorganic manganese on productive performance, antioxidant status, immune system and bone strength in aged laying hens (80 to 94 weeks). Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):97-107.
DOI:10.22067/ijasr.2022.72917.1042

Introduction: As the highest cost of poultry production is the cost of feed, optimizing feed consumption and reducing feed conversion ratio are very important in the poultry industry. Also, the problem of lower egg shell quality caused by prolonged egg production period is an important issue affecting the breeding of old layer hens. Approximately 10% of the eggs produced in poultry farms are lost due to breakage of eggshells, which accounts for huge economic loss to the egg industry. Improving eggshell quality are essential for protection against penetrating of pathogenic bacteria. As a result, a great deal of efforts have been applied to improving egg shell quality in old laying hens in the fields of mineral nutrition. Numerous researchers have focused on the addition of trace elements in the diet to regulate egg quality by improving eggshell ultrastructure. Manganese is an indispensable trace element, Manganese takes a crucial part in biological processes, including the metabolism of lipid, protein, and carbohydrate. The low Mn content in corn–soybean meal diets used in production and the inefficient intestinal absorption of Mn in birds calls for the need for optimizing the supplemental provision of Mn to birds. In the process of egg formation, manganese is important for the formation of the shell and the pleasure affects the quality of the shell. Manganese is an important nutrient for laying hens. Dietary Mn is known to have profound effects on the skeleton. Manganese supplementation affects the function and characteristics of the tibia.

Materials and methods: An experiment was conducted to investigate the effect of two inorganic and organic forms of manganese on performance, antioxidant activities, immune system and bone strength in older laying hens. 250 Leghorn laying hens (w-36) with 80 weeks of age were divided into 5 treatments and 5 replications in a completely randomized design. Treatments were: control (without manganese supplement), treatments containing 100% manganese sulfate (diet 1), 75% manganese sulfate and 25% organic manganese chelated (diet 2), 50% manganese sulfate and 50% organic chelated (diet 3) 25% sulfate Manganese and 75% organic chelated (diet 4). During the experiment, daily feed intake (g), egg weight, number and production of eggs (g/hen/day) and feed conversion ratio were calculated. To evaluate the humoral immunity on the day of slaughter (94 weeks age), 10 cc of blood was taken from two selected birds and its immunoglobulins were measured. To evaluate the bone strength, two pieces of chicken were selected from each replication and after slaughter, the tibia of the right foot was isolated and after preparation, the mechanical properties of the bones were measured. Also The antioxidant activities of SOD (Superoxide dismutase), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and MDA (malondialdehyde) were evaluated.

Results and Discussion: The results obtained in this experiment showed that the production performance was

1- Department of animal Science, Kashmar Branch,Islamic Azad University, Kashmar, Iran.
2-Department of animal Science, Kashmar Branch, Islamic Azad University, Kashmar, Iran.
3-Department of animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
*Corresponding Author Email: rezavakili2010@yahoo.com, vakili@iaukashmar.ac.ir

affected by experimental treatments. The lowest feed conversion ratio and the highest feed intake, egg production, egg weight and egg mass were observed in diets 4 and5, i.e. treatments receiving 50% and 75% manganese organic chelate. Also, the levels of immunoglobulin G and immunoglobulin M were significantly affected by experimental treatments. The levels of immunoglobulin G and immunoglobulin M in the experimental treatments showed a significant increase compared to the control treatment, while in immunoglobulin M there was no statistically significant difference between diet 3 and basal diet. In addition, antioxidant activity was significantly affected by experimental treatments. The amount of malondialdehyde was significantly reduced in diet treatments 4 and 5 compared to the control treatment. The percentage of DPPH (2,2-dipheny l-1-picrylhydrazyl) in diets 3, 4 and 5 showed a significant increase compared to the basal diet. Also, the amount of superoxide dismutase in diet 2 showed a significant decrease compared to other diets and control diet. However, the effects of inorganic and organic manganese supplements on the tibia strength of older laying hens were not affected by experimental treatments.

Conclusion: The results of this experiment showed that the addition of manganese supplement to the diet improves the production performance and immunoglobulin G and immunoglobulin M through the use of organic manganese source in laying hens and manganese amino acid chelate can replace 75% of manganese sulfate in the diet of older laying hens. Also, antioxidant status was significantly affected by experimental treatments. In general, the addition of manganese supplement in the diet of laying hens improves performance, immune system and antioxidant activity in aged laying hens.

Keywords: Antioxidant activity, Bone, Immune system, Laying hen, Manganese.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات مکمل‌های معدنی و آلی منگنز بر عملکرد، وضعیت پاداکسندگی، سیستم ایمنی و استحکام استخوان در مرغ‌های تخم‌گذار لگهورن سویه های‌لاین W-36 (۸۲ تا ۹٤ هفتگی)

محمدرضا خوشبین[۱]، رضا وکیلی[۲*]، عبدالمنصور طهماسبی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۲۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۰/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۵

خوشبین، م. ر.، ر. وکیلی، و ع. طهماسبی. ۱۴۰۱. بررسی اثرات مکمل‌های معدنی و آلی منگنز بر عملکرد، وضعیت پاداکسندگی، سیستم ایمنی و استحکام استخوان در مرغ‌های تخم‌گذار لگهورن سویه های‌لاین W-36 در سن (۸۲ تا ۹۴ هفتگی) . پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۴(۱): ۱۰۷-۹۷.

چکیده

این آزمایش به‌منظور بررسی تأثیر دو شکل معدنی و آلی منگنز بر عملکرد، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، سیستم ایمنی و استحکام استخوان بر روی ۲۵۰ قطعه مرغ تخم‌گذار لگهورن سویه‌های لاین w-36 با سن ۸۲ هفته در ۵ تیمار و ۵ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارها عبارت بودند از: تیمار ۱: شاهد (جیره ۱)، تیمار ۲: جیره پایه + ۱۰۰ درصد سولفات منگنز، (جیره ۲). تیمار ۳: جیره پایه + ۷۵ درصد سولفات منگنز و ۲۵ درصد کیلات آلی منگنز (جیره ۳). تیمار ۴: جیره پایه + ۵۰ درصد سولفات منگنز و ۵۰ درصد کیلات آلی منگنز (جیره ۴). تیمار ۵: جیره پایه + ۷۵ در صد کیلات آلی منگنز و ۲۵ در صد سولفات منگنز (جیره ۵). نتایج به‌ دست‌آمده در این آزمایش نشان داد کمترین میزان ضریب تبدیل خوراک و بیشترین میزان مصرف خوراک، درصد تخم‌گذاری، وزن تخم‌مرغ و توده تخم‌مرغ در جیره‌های ۴ و ۵ یعنی تیمارهای دریافت‌کننده ۵۰ ٪ و ۷۵ ٪ کیلات آلی منگنز مشاهده شد. میزان ایمنوگلوبولین G و ایمنوگلوبولین M به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. به‌طوری‌که میزان ایمنوگلوبولین G و ایمنوگلوبولین M در تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند؛ درحالی‌که در ایمنوگلوبولین M اختلاف معنی‌داری بین جیره ۳ و جیره شاهد مشاهده نشد. میزان مالون دی آلدئید به‌طور معنی‌داری در تیمارهای جیره ۴ و ۵ نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. در صد ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) در جیره‌های ۳، ۴ و ۵ به‌طور معنی‌داری در مقایسه با جیره شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. همچنین میزان سوپر اکسید دیسموتاز در جیره ۲ نسبت به باقی جیره‌ها و جیره شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد. این در حالی است که اثرات مکمل معدنی و آلی منگنز بر استحکام استخوان درشتنی مرغ‌های تخم‌گذار مسن تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. در کل می‌توان این‌چنین بیان کرد که افزودن مکمل منگنز در جیره مرغان تخم‌گذار باعث بهبود عملکرد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سیستم ایمنی شد که این بهبود در مکمل آلی منگنز نسبت به مکمل معدنی آن بیشتر قابل مشاهده بود که این نتیجه به دلیل آن است که میزان جذب شکل آلی بیشتر از شکل معدنی می باشد.

واژه‌های کلیدی: استخوان، سیستم ایمنی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مرغ تخم‌گذار، منگنز.

مقدمه

ازآنجا که بالاترین هزینه پرورش طیور هزینه خوراک است، بهینه سازی مصرف خوراک و کاهش ضریب تبدیل خوراک در صنعت طیور بسیار مهم است (Ahmadi *et al*., 2019). همچنین از طرفی،

۱-گروه علوم دامی، واحد کاشمر ،دانشگاه آزاد اسلامی، کاشمر، ایران.
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، واحد کاشمر ، دانشگاه آزاد اسلامی، کاشمر، ایران.
۳- استاد، گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: rezavakili2010@yahoo.com)
DOI: 10.22067/IJASR.2022.72917.1042

مشکل کیفیت پایین پوسته تخم‌مرغ ناشی از طولانی شدن دوره تولید تخم‌مرغ، مسئله مهمی است که بر پرورش مرغ‌های پیر تأثیر می‌گذارد. تقریباً ۱۰ درصد از تخم‌مرغ‌های تولیدشده در مرغداری‌ها به دلیل شکستن پوسته تخم‌مرغ از بین می‌رود که این امر ضرر اقتصادی زیادی را به صنعت تخم‌مرغ وارد می‌کند (Sah *et al*.,2018). بهبود کیفیت پوسته تخم‌مرغ برای محافظت در برابر نفوذ باکتری‌های بیماری‌زا نیز ضروری است (Swiatkiewicz *et al*.,2008). درنتیجه، تلاش‌های زیادی برای بهبود کیفیت پوسته تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار پیر در زمینه‌های تغذیه مواد معدنی انجام شده است (Xiao *et al*.,2015).

محققین در مورد افزودن عناصر کمیاب به جیره غذایی برای تنظیم کیفیت تخم‌مرغ با بهبود زیرساخت پوسته تخم‌مرغ تحقیق کرده‌اند (Fathi *et al*., 2016). منگنز یکی از عناصر کمیاب است. مقدار کم آن در جیره‌های غذایی ذرت و سویا و جذب ناکارآمد آن از طریق روده در طیور، بهینه‌سازی تأمین این ماده معدنی به‌صورت مکمل برای طیور را ضروری نموده است (Wang *et al*., 2021). منگنز نقش مهمی در فرآیندهای بیولوژیکی ازجمله متابولیسم لیپیدها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها دارد (Pan *et al*., 2018). کمبود منگنز در مرغ تخم‌گذار باعث کاهش قابل‌توجه تولید تخم‌مرغ، تخم‌های دارای پوسته‌های نازک‌تر و نواحی شفاف و همچنین ناهنجاری‌های موجود در زیرساخت پوسته تخم‌مرغ می‌شود (Yıldız *et al*., 2011). در فرآیند تشکیل تخم‌مرغ، منگنز برای تشکیل پوسته مهم است و لذا کیفیت پوسته تحت تأثیر این عنصر قرار می‌گیرد. از طرفی نتایج پژوهشی نشان داد که مکمل منگنز آلی نسبت به مکمل معدنی آن به طور مثبت بر توزیع عنصر در بافتها تأثیر می گذارد که منجر به بهبود افزایش وزن بدن، وزن تخم مرغ و کاهش در صد تخم مرغ های آسیب دیده در مرغ های تخمگذار می شود (Yıldız *et al*., 2011). همچنین مطالعه دیگری نشان داد که استفاده از منابع آلی منگنز به طور قابل توجهی بر عملکرد تخمگذار و کیفیت پوسته تخم مرغ تأثیر مثبت می گذارد (Klecker *et al*., 2002). به همین دلیل محققان استفاده از منابع آلی منگنز را توصیه کرده‌اند(Sun *et al*., 2010; Yıldız *et al*., 2011)، از طرفی مکمل منگنز بر عملکرد و ویژگی های استخوان در شتنی تأثیر دارد (Wang *et al*., 2021). به‌طور مشابه، طیوری که با منگنز ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قدرت شکستن استخوان درشتنی را بهبود بخشیدند (Jasek *et al*., 2019). مطالعات نشان داده است که رژیم غذایی دارای Mn تأثیرات عمیقی بر اسکلت دارد (Liu *et al*., 1994). علاوه بر این، کمبود منگنز نیز با پوکی استخوان مرتبط است (Liu *et al*., 2015) و رژیم‌های کمبود منگنز منجر به کاهش میزان خاکستر و طول استخوان ساق در جوجه‌ها می‌شود (Noetzold *et al*., 2020). ثابت شده است که منگنز از طریق مسیرهای مختلف در تنظیم استخوان نقش دارد. منگنز در سنتز موکوپلی ساکاریدها (Gajula *et al*., 2011;Conly *et al*., 2012; Xie *et al*., 2014) که اجزای اصلی ماتریس‌های خارج سلولی استخوان هستند و در ایجاد مشکلات جسمی نقش اساسی دارند، مهم است (Noetzold *et al*., 2020) منگنز همچنین از طریق مشارکت خود در فعالیت آنزیمی در مسیرهای متابولیک دخیل در تشکیل سیستم اسکلتی مشارکت می‌کند (Oliveira *et al*., 2015).

با توجه به اهمیت مواد معدنی کم مصرف در تغذیه طیور بویژه مرغ‌های تخمگذار، هدف از این تحقیق بررسی اثرات سطوح افزایشی عنصر منگنز در دو شکل آلی و معدنی بر عملکرد، وضعیت پاداکسندگی، سیستم ایمنی و استحکام استخوان در مرغ‌های تخم‌گذار لگهورن سویه های‌لاین W-36 در سن (۸۲ تا ۹۴ هفتگی) می باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در تابستان ۱۳۹۹ در مرغداری تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر استان خراسان رضوی انجام شد. در این طرح تعداد ۲۵۰ قطعه مرغ تخم‌گذار لگهورن سویه های‌لاین W-36 در سن ۸۰ هفتگی (مرحله پایانی تولید) استفاده شد. مرغ‌ها بصورت تصادفی در قفس‌های سه‌طبقه به پنج تیمار آزمایشی با پنج تکرار و ۱۰ قطعه مرغ در هر تکرار تقسیم شدند. کل مدت اجرای طرح ۱۲ هفته بود و در تمام دوره آزمایش خوراک و آب به‌صورت آزادانه در اختیار مرغ‌ها قرار داشت و قبل از شروع آزمایش به مدت دو هفته جهت عادت‌پذیری جیره پایه در اختیار آن‌ها قرار گرفت و آزمایش در ۸۲ هفتگی آغاز شد. تیمارهای آزمایشی مورداستفاده در این طرح عبارت‌اند از:

تیماریک: شاهد (جیره یک)، تیماردو: جیره پایه + ۱۰۰ ٪ سولفات منگنز، (جیره دو). تیمار سه: جیره پایه + ۷۵ ٪ سولفات منگنز و ۲۵ ٪ کیلات آلی منگنز (جیره سه). تیمار چهار: جیره پایه + ۵۰ ٪ سولفات منگنز و ۵۰ ٪ کیلات آلی منگنز (جیره چهار). تیمار پنج: جیره پایه + ۷۵ ٪ کیلات آلی منگنز و ۲۵ ٪ سولفات منگنز (جیره پنج). قابل ذکر است که مقدار عنصر منگنز صرف نظر از نوع منبع آن، در جیره ها یکسان بوده است.

سولفات منگنز پنج آبه (۳۴ ٪ منگنز) به‌عنوان مکمل معدنی از شرکت جوانه خراسان خریداری و استفاده شد و مکمل آلی منگنز به صورت کیلات اسیدآمینه- منگنز (AA-Mn) با پنج در صد منگنز از شرکت آریانا خریداری شد. جدول ۱ ترکیبات جیره پایه را نشان می‌دهد.

صفات عملکردی

میزان خوراک مصرفی طبق راهنمای سویه موردنظر (Jasek *et al*.,2019) روزانه ۱۱۰ گرم در نظر گرفته شد. در مدت انجام آزمایش مصرف خوراک روزانه (گرم)، تعداد و تولید تخم‌مرغ (گرم/مرغ/روز) و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد. مصرف خوراک روزانه هر تیمار، با اندازه‌گیری باقیمانده خوراک مصرفی در روز بعد و کسر آن از مقدار کل خوراک در نظر گرفته‌شده برای هر تیمار محاسبه شد. وزن تخم‌مرغ با استفاده از ترازو دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری می شد. در پایان،

درصد تولید تخم‌مرغ، وزن توده تخم‌مرغ و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد (Vakili *et al.*,2022).

جدول ۱- اجزاء تشکیل‌دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره پایه

Table 1- Ingredients and nutrients composition of the control diets

اجزای خوراک Ingredients	درصد ٪
ذرت Corn	53
کنجاله سویا (پروتئین خام ۴۴ درصد) Soybean meal (44%CP)	25
کربنات کلسیم Calcium carbonate	10
روغن گیاهی Vegetable Oil	¼
سبوس گندم Wheat brain	6
دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate	2.2
نمک Salt	0.25
جوش شیرین Sodium bicarbonate	0.15
مکمل ویتامینه Vitamin supplement[1]	0.25
مکمل معدنی Mineral supplement[2]	0.25
دی ال متیونین DL-Methionine	0.2
ال-لیزین هیدروکلراید L-Lysine HCl	0.1
ترکیبات محاسبه‌شده Calculated analysis	
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم) Metabolisable energy (kcal/kg)	2810
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	15.15
کلسیم (درصد) Calcium(٪)	4.65
فسفر قابل‌دسترس (درصد) Available phosphorous (%)	0.4
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.18
متیونین (درصد) Methionine (%)	0.38
متیونین+ سیستین (درصد) Methionine + Cystine (%)	0.65
لیزین (درصد) Lysine (%)	0.8
آرژنین (درصد) Arginine (%)	0.9
ترئونین (درصد) Threonine (%)	0.59

[۱] ترکیب مکمل ویتامینه برای هر کیلوگرم جیره شامل: ۳۲۰۰۰۰۰IU ویتامین A، ۱۳۲۰۰۰۰IU ویتامین D_3، ۸۰۰۰ IU ویتامین E، ۱۰۰۰ mg/kg ویتامین K_3، ۱۰۰۰ mg/kg ویتامین B_1، ۲۲۰۰ mg/kg ویتامین B_2، ۳۲۰۰ mg/kg ویتامین کالبان، ۱۲۰۰۰mg/kg نیاسین، ۱۶۰۰ mg/kg B_6، ۳۶۰ mg/kg B_9، ۹mg/kg B_{12}، ۳۰mg/kg بیوتین، ۴۴۰۰۰ mg/kg کولین، آنتی‌اکسیدان ۳۰۰۰ mg/kg. [۲] مکمل معدنی بدون منگنز برای هر کیلوگرم جیره پایه شامل: ۳۲۰۰۰ mg روی، ۳۲۰۰ mg مس، ۴۸۰ mg ید، ۸۸ mg سلنیوم، ۱۶۰۰۰ mg آهن. میزان منگنز جیره پایه اندازه‌گیری‌شده در آزمایشگاه ۷۹/۰۱ mg/kg به دست آمد.

[1]Vitamin premix provides per kg diet: vitamin A, 3200000 IU; vitamin D3, 1320000 IU; vitamin E, 8000IU; vitamin K3, 1000 mg/kg; vitamin B1, 1000 mg/kg; vitamin B2, 2200 mg/kg; vitamin B5, 32000 mg/kg; vitamin B3, 12000 mg/kg; vitamin B6, 1600 mg/kg; vitamin B9, 360 mg/kg; vitamin B12, 9 mg/kg; Biotin 30 mg/kg; Choline 44000 mg/kg; Antioxidant 3000 mg/kg. [2]Manganese-free mineral premix provides per kg diet: Zn, 32000mg; Cu, 3200 mg; I, 480 mg; Se, 88 mg; Fe, 16000 mg. The amount of base diet manganese measured in the experiment was 79.01 mg/kg.

فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی

به‌منظور بررسی وضعیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) سرم با استفاده از کیت تشخیصی Randsel SOD (Randox, Crumlin, Uk)، در آزمایشگاه ماد (همکار شرکت جوانه خراسان) مورد ارزیابی قرار گرفت. مالون دی آلدئید به‌عنوان محصول نهایی پر اکسیداسیون لیپید در سلول‌های کبدی مرغ با استفاده از روش واکنش‌دهنده ماده تیوباربیتوریک اسید (TBARS) تعیین شد. اندازه‌گیری فعالیت پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد طبق تحقیقات قبلی انجام شد (Qiu *et al*.,2009).

بررسی ایمنی‌شناسی

به‌منظور بررسی ایمنی همورال از آنتی‌ژن گلبول قرمز گوسفندی (SRBC[1]) استفاده گردید و پاسخ ایمنی علیه آن با اندازه‌گیری میزان ایمنوگلوبولین‌های سرم موردبررسی قرار گرفت. یک هفته قبل از کشتار و اتمام طرح، از هر تکرار دو قطعه مرغ انتخاب و به آن‌ها محلول موردنظر تزریق گردید. در روز کشتار از هر قطعه مرغ انتخابی، ۱۰ میلی‌لیتر خون‌گرفته شد و ایمنوگلوبولین‌ها آن اندازه‌گیری گردید (Abbasi *et al*.,2020).

اندازه‌گیری استحکام استخوان‌ها

جهت بررسی استحکام استخوان، از هر تکرار دو قطعه مرغ انتخاب و پس از کشتار، استخوان درشت‌نی پای راست جدا گردید و پس از جدا سازی بافت‌های چربی و غضروفی، خصوصیات مکانیکی استخوان‌ها توسط دستگاه Instron (مدل H5KS,Tinius Olsen Company) اندازه‌گیری و نتایج با نرم‌افزار اختصاصی مربوط به این دستگاه (Q Mat) محاسبه شد (Mirkazehi *et al*.,2013).

آنالیز آماری

داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ویرایش ۹/۱ و مدل آماری خطی عمومی (GLM) در قالب طرح کاملاً تصادفی ارزیابی شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی-کرامر انجام گرفت (Vakili *et al*.,2022).

نتایج و بحث

نتایج اثرات سطوح مختلف مکمل آلی و معدنی منگنز بر عملکرد تولیدی مرغ‌های تخم‌گذار مسن در جدول ۲ گزارش شده است. میزان مصرف خوراک، درصد تخم‌گذاری، وزن تخم‌مرغ، توده تخم‌مرغ و ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که مصرف خوراک، درصد تخم‌گذاری و توده تخم‌مرغ در تیمارهای جیره ۴ و ۵ افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد (P<۰/۰۵)؛ و تمامی تیمارهای اعمال‌شده باعث افزایش معنی‌دار وزن تخم‌مرغ نسبت به تیمار شاهد شدند (P<۰/۰۵). بعلاوه تیمارهای جیره ۴ و ۵ باعث بهبود و کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک نسبت به تیمار شاهد شد (P<۰/۰۵).

مطابق با نتایج به‌دست‌آمده در این آزمایش، محققان بیان کردند استفاده از منابع مختلف منگنز به‌طور معنی‌داری وزن تخم‌مرغ را افزایش داده همچنین باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک در همه تیمارهای آزمایشی شده درحالی‌که افزایش توده تخم‌مرغ در تیمارهای ۷۰ و ۹۰ میلی‌گرم هیدرو کسی کلرید منگنز نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (Ghalesefidi *et al*.,2019). در مطالعه‌ی دیگری محققین گزارش کردند که استفاده از مکمل آلی منگنز وزن تخم‌مرغ و میزان افزایش وزن بدن مرغان تخم‌گذار را طی سنین ۴۹ تا ۶۱ هفتگی افزایش و درصد تخم‌مرغ‌های آسیب‌دیده را در مقایسه با منبع غیرآلی این عنصر کاهش داد (Yıldız *et al*.,2011). در پژوهشی با استفاده از منابع معدنی روی و منگنز (به شکل اکسید) و منابع آلی روی و منگنز به شکل کیلات اسیدآمینه نشان داده شد که مصرف خوراک و وزن تخم‌مرغ با منابع آلی روی یا منگنز و منابع آلی در ترکیب با شکل معدنی روی و منگنز به‌طور قابل‌توجهی (P<۰/۰۵) افزایش یافت (Darvishi *et al*.,2020). محققان گزارش دادند که افزودن منگنز با غلظت ۲۰ تا ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در جیره‌های غذایی مبتنی بر ذرت - سویا، توده تخم‌مرغ را در مرغ‌های تخم‌گذار ۲۳ تا ۴۶ هفته، درصد تولید تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار را افزایش و باعث کاهش ضریب تبدیل خوراک شد (Cui *et al*.,2019).

اثرات آنتی‌اکسیدانی مکمل معدنی و آلی منگنز در مرغ های تخم‌گذار مسن در جدول ۴ گزارش‌شده است. با توجه به نتایج به دست از این آزمایش، مالون دی آلدئید، DPPH[2] و سوپر اکسید دیسموتاز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که میزان مالون دی آلدئید به‌طور معنی‌داری در تیمارهای جیره ۴ و ۵ نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۵). همچنین در صد DPPH تیمارهای آزمایشی به‌ویژه جیره‌های ۳، ۴ و ۵ به‌طور معنی‌داری در مقایسه با جیره پایه افزایش نشان داد (P<۰/۰۵). همچنین میزان سوپر اکسید دیسموتاز در جیره ۲ نسبت به باقی جیره‌ها و شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵).

1- Sheep Red Blood Cell

2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

جدول ۲– اثرات سطوح مختلف مکمل آلی و معدنی منگنز بر عملکرد تولیدی مرغ‌های تخم‌گذار مسن (۸۲ تا ۹۴ هفتگی)

Table 2- Effect of different Sources of organic and inorganic manganese on laying performance in old laying hens

شاخص عملکرد تولیدی performance indicators	جیره‌های آزمایشی[۱] Experimental diets[1]					SEM	P-value
	جیره پایه Control	جیره ۲ diet 2	جیره ۳ diet 3	جیره ۴ diet 4	جیره ۵ diet 5		
مصرف خوراک (گرم) Feed intake (gr)	107.29^{b}	107.57^{ab}	107.64^{ab}	107.79^{a}	107.95^{a}	0.09	<0.001
درصد تخم‌گذاری Egg production	62.03^{b}	63.33^{ab}	64.32^{ab}	69.00^{a}	71.67^{a}	1.11	<0.001
وزن تخم‌مرغ (گرم) Egg weight (gr)	65.16^{b}	66.46^{a}	66.41^{a}	67.09^{a}	68.09^{a}	0.27	<0.001
توده تخم‌مرغ (گرم) Egg mass (gr)	40.62^{b}	42.09^{ab}	42.73^{ab}	46.29^{a}	48.83^{a}	0.80	<0.001
ضریب تبدیل Feed conversion ratio	2.64^{a}	2.56^{ab}	2.52^{ab}	2.34^{b}	2.23^{b}	0.04	<0.001

SEM: میانگین خطای معیار.

^{a,b} میانگین‌های با حرف غیرمشابه در هر ردیف، ازنظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند (P<۰،۰۵).

[۱]جیره پایه بدون مکمل منگنز، جیره ۲ حاوی ۱۰۰ درصد سولفات منگنز، جیره ۳ حاوی ۷۵ درصد سولفات منگنز و ۲۵ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۴ حاوی ۵۰ درصد سولفات منگنز و ۵۰ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۵ حاوی ۲۵ درصد سولفات منگنز و ۷۵ درصد کیلات آلی منگنز.

SEM: standard error meaning.

^{a,b} Values in a row with no common superscript letter are significantly different (P < 0.05).

[1] control without manganese supplement, diet 2 containing 100% manganese sulfate, diet 3 containing 75% manganese sulfate and 25% organic manganese chelated, diet 4 containing 50% manganese sulfate and 50% organic chelated, diet 5 containing 25% sulfate Manganese and 75% organic chelated.

اثرات ایمنی‌شناسی مکمل معدنی و آلی منگنز در مرغ‌های تخم‌گذار مسن در جدول ۳ گزارش‌شده است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده میزان ایمونوگلوبولین G و ایمونوگلوبولین M به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که میزان ایمونوگلوبولین G در تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵) همچنین میزان ایمونوگلوبولین M نسبت به مرغ‌های دریافت‌کننده جیره پایه افزایش معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵) درحالی‌که اختلاف معنی‌دار آماری بین جیره ۳ و جیره پایه مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

مطالعات متعدد اخیر ثابت کرده است که منگنز نقش مهمی در عملکرد سیستم ایمنی بدن دارد (Gajula *et al*.,2019). ثابت شده است که منگنز در حمایت از عملکردهای طبیعی سیستم ایمنی در طیور نقش مهمی دارد (Junior *et al*.,2019). همچنین افزودن مکمل منگنز به خوراک جوجه‌های گوشتی باعث افزایش معنی‌دار وزن نسبی اندام‌های سیستم ایمنی در آخر دوره رشد جوجه‌های گوشتی شد (Wang *et al*.,2021)؛ که دلیل بهبود ایمنی به‌وسیله منگنز ممکن است ناشی از سهم آن در فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز منگنز(MnSOD) (Luo *et al*.,2007) و حذف سموم بیشتر از متابولیسم سلولی (رادیکال‌های آزاد) باعث تقویت سیستم ایمنی بدن می‌شود؛ بنابراین، کمبود آن منجر به تغییر و آسیب به بافتهای اندام‌های ایمنی مانند بورس فابریسیوس می‌شود که محل تولید لنفوسیت‌ها است (Faria *et al*.,2019)؛ که سوپر اکسید دیسموتاز منگنز برای یکپارچگی ماکروفاژها حیاتی است (Ghosh *et al*.,2011)، زیرا MnSOD از طریق سلول‌های غشای پلاسمایی که در پاسخ ایمنی عمل می‌کنند، با هتروفیلها و ماکروفاژها در تعامل است (Junior *et al*.,2019). گزارش شده است که کلات منگنز در طیور لنفوسیت‌های T-helper (Th1 و Th2) را متعادل می‌کند که در فعال‌سازی ماکروفاژها و ایجاد تولید آنتی‌بادی نقش دارند. همچنین نشان داده شده که آن‌ها بیان ایمونوگلوبولینهای M و G را افزایش می‌دهند (Junior *et al*.,2019).

مطابق با نتایج این آزمایش، در مطالعه‌ای فعالیت آنتی‌اکسیدانی منگنز را در مرغ‌های تخم‌گذار گزارش شده است (Cui *et al*.,2019). منگنز جزء MnSOD است، آنزیم آنتی‌اکسیدانی اولیه که از سلولها در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند، توانایی آنتی‌اکسیدانی را در حذف گونه های اکسیژن فعال بیش‌ازحد (ROS) و کاهش پر اکسیداسیون لیپید در طیور را افزایش می‌دهد (Zhu *et al*.,2017). همچنین منگنز بیان ژن و فعالیت Mn-SOD را در جوجه تعدیل می کند (Gao *et al*.,2011;Ghosh *et al*.,2011). افزودن ۹۰ میلی‌گرم منگنز به ازای هر کیلوگرم به رژیم غذایی پایه باعث بهبود فعالیت‌های سوپر اکسید دیسموتاز حاوی منگنز (Mn-SOD) و سوپر

اکسید دیسموتاز کل (T-SOD) شد (Fouad *et al*.,2010). علاوه بر این، با افزایش محتوای T-AOC، فعالیت‌های T-SOD و فعالیت‌های Mn-SOD و کاهش محتوای MDA، و ضعیت آنتی‌اکسیدان سرم را بهبود بخشید (Zhang *et al*.,2020).

اثرات مکمل معدنی و آلی منگنز بر استحکام استخوان درشتنی

مرغ‌های تخم‌گذار مسن در جدول ۵ گزارش‌شده است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، بین تیمارهای آزمایشی در رابطه با استحکام استخوان اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

جدول ۳- اثرات سطوح مختلف مکمل معدنی و آلی منگنز بر ایمنی‌شناسی در مرغ‌های تخم‌گذار مسن (۸۲ تا ۹۴ هفتگی)

Table 3- Effect of different Sources of organic and inorganic manganese on immune system in old laying hens

پارامترهای ایمنی Safety Parameters	جیره‌های آزمایشی[۱] Experimental diets					SEM	P-value
	جیره پایه Control	جیره ۲ diet 2	جیره ۳ diet 3	جیره ۴ diet 4	جیره ۵ diet 5		
ایمنوگلوبولین G IgG (ng/ml)	162.60^{b}	206.5^{a}	157.30^{a}	194.80^{a}	177.30^{a}	1.09	0.0001
ایمنوگلوبولین I IgM (ng/ml)	64.10^{b}	83.60^{a}	65.70^{b}	81.80^{a}	75.40^{a}	0.78	0.0001

SEM: میانگین خطای معیار.

^{a,b} میانگین‌های با حرف غیرمشابه در هر ردیف، ازنظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند (P<۰،۰۵).

[۱]جیره پایه بدون مکمل منگنز، جیره ۲ حاوی ۱۰۰ درصد سولفات منگنز، جیره ۳ حاوی ۷۵ درصد سولفات منگنز و ۲۵ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۴ حاوی ۵۰ درصد سولفات منگنز و ۵۰ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۵ حاوی ۲۵ درصد سولفات منگنز و ۷۵ درصد کیلات آلی منگنز.

SEM: standard error meaning.

^{a,b} Values in a row with no common superscript letter are significantly different (P < 0.05).

[1]control without manganese supplement, diet 2 containing 100% manganese sulfate, diet 3 containing 75% manganese sulfate and 25% organic manganese chelated, diet 4 containing 50% manganese sulfate and 50% organic chelated, diet 5 containing 25% sulfate Manganese and 75% organic chelated.

جدول ٤- اثرات سطوح مختلف مکمل معدنی و آلی منگنز بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مرغ‌های تخم‌گذار مسن (۸۲ تا ۹۴ هفتگی)

Table 4- Effect of different Sources of organic and inorganic manganese on Antioxidant activity in old laying hens

پارامترها Parameters	جیره‌های آزمایشی Experimental diets					SEM	P-value
	جیره پایه Control	جیره ۲ diet 2	جیره ۳ diet 3	جیره ۴ diet 4	جیره ۵ diet 5		
سوپر اکسید دیسموتاز SOD (U/ml)	284.30^{a}	201.70^{b}	216.80^{a}	341.90^{a}	363.50^{a}	0.78	0.0001
مالون دی آلدئید MDA	100^{a}	96.56^{a}	93.80^{a}	87.63^{b}	85.30^{b}	6.12	0.0001
دی فنیل پیکریل هیدرازیل DPPH	71.50^{b}	76.33^{b}	82.50^{a}	87.50^{a}	88.33^{a}	7.24	0.0001

SEM: میانگین خطای معیار.

^{a,b} میانگین‌های با حرف غیرمشابه در هر ردیف، ازنظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند (P<۰،۰۵).

جیره پایه بدون مکمل منگنز، جیره ۲ حاوی ۱۰۰ درصد سولفات منگنز، جیره ۳ حاوی ۷۵ درصد سولفات منگنز و ۲۵ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۴ حاوی ۵۰ درصد سولفات منگنز و ۵۰ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۵ حاوی ۲۵ درصد سولفات منگنز و ۷۵ درصد کیلات آلی منگنز

.2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

SEM: standard error meaning.

^{a,b} Values in a row with no common superscript letter are significantly different (P < 0.05).

[1]control without manganese supplement, diet 2 containing 100% manganese sulfate, diet 3 containing 75% manganese sulfate and 25% organic manganese chelated, diet 4 containing 50% manganese sulfate and 50% organic chelated, diet 5 containing 25% sulfate Manganese and 75% organic chelated. 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

جدول ۵- اثرات مکمل معدنی و آلی منگنز بر استحکام استخوان درشت‌نی مرغ‌های تخم‌گذار مسن (۸۲ تا ۹۴ هفتگی)

Table 5- Effect of different Sources of organic and inorganic manganese on bone strength in old laying hens

پارامترها Parameters	جیره‌های آزمایشی[1] Experimental diets					SEM	P-value
	جیره پایه Control	جیره ۲ diet 2	جیره ۳ diet 3	جیره ۴ diet 4	جیره ۵ diet 5		
نیروی شکست (N) breaking force	124.70	213.70	215.75	228.30	157.10	28.09	0.17
کار انجام‌شده تا نقطه شکست (J) breaking moment	0.09	0.13	0.14	0.15	0.10	0.02	0.29
خمش شکست (mm) bend broke	1.94	1.23	1.57	1.41	1.22	0.19	0.17
ضخامت قشر (mm) cortex thickness	2.81	2.18	1.96	2.31	1.72	0.58	0.74

SEM: میانگین خطای معیار.

[1]جیره پایه بدون مکمل منگنز، جیره ۲ حاوی ۱۰۰ درصد سولفات منگنز، جیره ۳ حاوی ۷۵ درصد سولفات منگنز و ۲۵ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۴ حاوی ۵۰ درصد سولفات منگنز و ۵۰ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۵ حاوی ۲۵ درصد سولفات منگنز و ۷۵ درصد کیلات آلی منگنز.

SEM: standard error meaning.

[1]control without manganese supplement, diet 2 containing 100% manganese sulfate, diet 3 containing 75% manganese sulfate and 25% organic manganese chelated, diet 4 containing 50% manganese sulfate and 50% organic chelated, diet 5 containing 25% sulfate Manganese and 75% organic chelated.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان دادند که افزودن مکمل آلی منگنز نسبت به مکمل معدنی در جیره مرغان تخم‌گذار تاثیر بیشــتر دارد به‌طورکلی افزودن مکمل حاوی میزان ۵۰ در صد و ۷۵ در صد کیلات آلی منگنز به جیره ســـبب بهبود عملکرد تولیدی، ســـیســـتم ایمنی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. که این نتیجه به دلیل آن است که میزان جذب شکل آلی بیشتر از شکل معدنی می باشد.

Refrences

1.Abbasi, S., J.Fakhraei, H. Mansoori Yarahmadi and S. Khaghani.2020.Effects of different sources fat on performance immune system and intestinal microflora in commercial laying hens. Journal of Animal Environment .12(4): 225-230.(In persian). Doi:10.22034/AEJ.2020.125582.

2.Ahmadi, M., A. Ahmadian, M. Poorghasemi, P. Makovicky, and A. Seidavi. 2019. Nano-Selenium affects on duodenum, jejunum, ileum and colon characteristics in chicks: An animal model. International Journal of Nano Dimension, 10(2):225-229.

3.Conly, A. K., R. Poureslami, E. A. Koutsos, A. B. Batal, B. Jung, R. Beckstead, and D. G. Peterson. 2012. "Tolerance and efficacy of tribasic manganese chloride in growing broiler chickens. Poultry science, 91(7):1633-1640. DOI: 10.3382/ps.2011-02056

4.Cui, Y. M., Zhang, H. J., Zhou, J. M., Wu, S. G., Zhang, C., Qi, G. H., & Wang, J. 2019. Effects of long-term supplementation with amino acid-complexed manganese on performance, egg quality, blood biochemistry and organ histopathology in laying hens. Animal Feed Science and Technology, 254, 114203. DOI: 10.1016/j.psj.2020.06.076.

5.Darvishi, Y., M. S. Shargh, and S. Hassani. 2020. Effect of organic or inorganic zinc and manganese sources on performance and egg quality traits of laying hens. Journal of Advanced Pharmacy Education and Research, 10(S1), 23.

6.Faria, B.D., L.M. Silva, V. Ribeiro, A.H.D.N. Ferreira, H.S. Rostagno, L.F.T. Albino, and M.I. Hannas. 2019. Organic trace minerals and calcium levels in broilers' diets to 21 days old. *Scientia Agricola*, *77*.

7.Fathi, M.M., A.E. El-Dlebshany, M.B. El-Deen, L.M. Radwan, and G.N. Rayan. 2016. Effect of long-term selection for egg production on eggshell quality of Japanese quail (Coturnix japonica). *Poultry science*, *95*(11):2570-2575. DOI: 10.3382/ps/pew233

8.Fouad, A.M., Y. Li, W. Chen, D. Ruan, S. Wang, W. Xie, Y.C. Lin, and C.T. Zheng. 2016. Effects of dietary manganese supplementation on laying performance, egg quality and antioxidant status in laying ducks. *Asian J Anim Vet Adv*, *11*:570-575. DOI: 10.3923/ajava.2016.570.575.

9.Gajula, S.S., V.K. Chelasani, A.K. Panda, V.R. Mantena, and R.R. Savaram. 2011. Effect of supplemental inorganic Zn and Mn and their interactions on the performance of broiler chicken, mineral bioavailability, and immune response. *Biological trace element research*, *139*(2):177-187.DOI: 10.1007/s12011-010-8647-8.

10.Gao, T., F. Wang, S. Li, X. Luo, and K. Zhang. 2011. Manganese regulates manganese-containing superoxide dismutase (MnSOD) expression in the primary broiler myocardial cells. *Biological trace element research*, *144*(1):695-704. DOI: 10.1007/s12011-011-9093-y.

11.Ghalesefidi, M.J., F. Shirmohammad, and M. Mehri. 2019. Effect of dietary inclusion of sulphate, hydroxychloride and organic complex sources of manganese on egg quality of aged laying hens. *Iranian Journal of Animal Science (IJAS)*, *50*(2). (In Persian). 10.22059/IJAS.2019.276506.653688.

12.Ghosh, A., G.P. Mandal, A. Roy, and A.K. Patra. 2016. Effects of supplementation of manganese with or without phytase on growth performance, carcass traits, muscle and tibia composition, and immunity in broiler chickens. *Livestock Science*, *191*:80-85. DOI:10.1016/j.livsci.2016.07.014.

13.HylineInternational.2015.Availableat:http://www.hyline.com/UserDocs/Pages/PUB_INVEST_ENG. pdf.

14.Jasek, A., C.D. Coufal, T.M. Parr, and J.T. Lee. 2019. Evaluation of Increasing manganese hydroxychloride level on male broiler growth performance and tibia strength. *Journal of Applied Poultry Research*, *28*(4):1039-1047. DOI: 10.3382/japr/pfz065.

15.Junior, A.M.B., N.L.M. Fernandes, A. Snak, A. Fireman, D. Horn, and J.I.M. Fernandes. 2019. Arginine and manganese supplementation on the immune competence of broilers immune stimulated with vaccine against Salmonella Enteritidis. *Poultry science*, *98*(5):2160-2168. DOI:10.3382/ps/pey570.

16.Klecker D., L. Zeman, P. Jelinek, and A. Bunesova. 2002. Effect of manganese and zinc chelates on the quality of eggs. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mende-lianae Brunensis, 50:59–68.

17.Liu, A.H., B.S. Heinrichs, and R.M. LeachJr. 1994. Influence of manganese deficiency on the characteristics of proteoglycans of avian epiphyseal growth plate cartilage. *Poultry science*, *73*(5):663-669. DOI: 10.3382/ps.0730663.

18.Liu, R., C. Jin, Z. Wang, Z. Wang, J. Wang, and L. Wang. 2015. Effects of manganese deficiency on the microstructure of proximal tibia and OPG/RANKL gene expression in chicks. *Veterinary research communications*, *39*(1):31-37. DOI: 10.1007/s11259-015-9626-5.

19.Luo, X.G., S.F. Li, L. Lu, B. Liu, X. Kuang, G.Z. Shao, and S.X. Yu. 2007. Gene expression of manganese-containing superoxide dismutase as a biomarker of manganese bioavailability for manganese sources in broilers. *Poultry science*, *86*(5):888-894. DOI:10.1093/ps/86.5.888.

20. Mirkazehi, M.T.,H. kermanshahi, A. Golian, A.R., Raaji.2013.The Effects of Dietary 1, 25-Dihydroxycholecalciferol and Root Hydroalcoholic Extract of Withania somnifera on Bone Mineralisation and Strength of Broiler Chickens. Iranian Journal of Animal Science Research.5(4).313-324.(In persian).DOI: 10.22067/IJASR.V5I4.33864.

21. Noetzold, T.L., S.L. Vieira, A. Favero, R.M. Horn, C.M. Silva, and G.B. Martins. 2020. Manganese requirements of broiler breeder hens. *Poultry Science*, *99*(11):5814-5826.DOI: 10.1016/j.psj.2020.06.085.

22.Oliveira, T.F.B., A.G. Bertechini, R.M. Bricka, E.J. Kim, P.D. Gerard, and E.D. Peebles. 2015. Effects of in ovo injection of organic zinc, manganese, and copper on the hatchability and bone parameters of broiler hatchlings. *Poultry Science*, *94*(10):2488-2494. DOI: 10.3382/ps/pev248.

23. Pan, S., K. Zhang, X. Ding, J. Wang, H. Peng, Q. Zeng, Y. Xuan, Z. Su, B. Wu, and S. Bai. 2018. Effect of high dietary manganese on the immune responses of broilers following oral Salmonella typhimurium inoculation. *Biological trace element research*, *181*(2):347-360. DOI:10.1007/s12011-017-1060-9.

24.Qiu, Y., Q. Liu, and T. Beta. 2009. Antioxidant activity of commercial wild rice and identification of flavonoid compounds in active fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(16):7543-7551. DOI:10.1007/s12011-017-1060-9.

25.Sah, N., D.L. Kuehu, V.S. Khadka, Y. Deng, K. Peplowska, R. Jha, and B. Mishra. 2018. RNA sequencing-based analysis of the laying hen uterus revealed the novel genes and biological pathways involved in the eggshell biomineralization. *Scientific reports*, *8*(1):1-12. DOI:10.1021/jf901074b.

26.Sun, Q., Y. Guo, J. Li, T. Zhang, and J. Wen. 2010. Effects of methionine hydroxy analog chelated Cu/Mn/Zn on laying performance, egg quality, enzyme activity and mineral retention of laying hens. *The Journal of Poultry Science*:1108310128-1108310128. DOI:10.2141/jpsa.011055.

27.Swiatkiewicz, S. and J. Koreleski. 2008. The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. *Veterinarni Medicina*, *53*(10):555. DOI:10.17221/1966-VETMED.

28.Vakili, R. , J. Saebifar, R. Majidzadeh heavi.2022.Investigation of Egg Enrichment Using Organic and inorganic Supplements in aged Laying Hens.134(1).183-193.(In persian).DOI: 10.22092/VJ.2021.353503.1820.

29. Wang, Y., Z. Gou, X. Lin, Q. Fan, J. Ye, and S. Jiang. 2021. Optimal Level of Supplemental Manganese for Yellow-Feathered Broilers during the Growth Phase. *Animals*, *11*(5):1389. DOI: 10.3390/ani11051389.

30.Xiao, J.F., S.G. Wu, H.J. Zhang, H.Y. Yue, J. Wang, F. Ji, and G.H. Qi. 2015. Bioefficacy comparison of organic manganese with inorganic manganese for eggshell quality in Hy-Line Brown laying hens. *Poultry Science*, *94*(8):1871-1878. DOI:10.3382/ps.2013-03354.

31.Xie, J., C. Tian, Y. Zhu, L. Zhang, L. Lu, and X. Luo. 2014. Effects of inorganic and organic manganese

supplementation on gonadotropin-releasing hormone-I and follicle-stimulating hormone expression and reproductive performance of broiler breeder hens. *Poultry Science*, *93*(4):959-969. https://doi.org/10.3382/ps.2013-03598.

32. Yıldız, A.Ö., Y. Cufadar, and O. Olgun. 2011. Effects of dietary organic and inorganic manganese supplementation on performance, egg quality and bone mineralisation in laying hens. *Revue de Medecine Veterinaire*, *162*(10):482-488.

33. Zhang, Y.N., S. Wang, X.B. Huang, K.C. Li, W. Chen, D. Ruan, W.G. Xia, S.L. Wang, K.F.M. Abouelezz, and C.T. Zheng. 2020. Estimation of dietary manganese requirement for laying duck breeders: effects on productive and reproductive performance, egg quality, tibial characteristics, and serum biochemical and antioxidant indices. *Poultry Science*, *99*(11):5752-5762. DOI:10.1016/j.psj.2020.06.076.

34. Zhu, Y., L. Lu, X. Liao, W. Li, L. Zhang, C. Ji, X. Lin, H.C. Liu, J. Odle, and X. Luo. 2017. Maternal dietary manganese protects chick embryos against maternal heat stress via epigenetic-activated antioxidant and anti-apoptotic abilities. *Oncotarget*, *8*(52):89665. DOI: 10.18632/oncotarget.20804.